

VU Research Portal

Defining microvascular injury in acute myocardial infarction and response after cell therapy using cardiovascular magnetic resonance imaging

Robbers, L.F.H.J.

2016

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Robbers, L. F. H. J. (2016). *Defining microvascular injury in acute myocardial infarction and response after cell therapy using cardiovascular magnetic resonance imaging*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl



SAMENVATTING

Hart- en vaatziekten blijven een van de belangrijkste doodsoorzaken in de westerse samenleving. Tijdens een acuut myocardiinfarct ontstaat door een acute afsluiting van een van de kransslagaders schade aan de hartspier (myocard) door zuurstofgebrek, met daaropvolgend verlies van hartfunctie. Met de opkomst van nieuwe behandeltechnieken, zoals de percutane coronaire interventie (PCI), zijn de vroege sterftcijfers voor het hartinfarct in de laatste decennia gedaald. Echter, afname van hartfunctie door een hartinfarct heeft geleid tot een toename in het aantal patiënten met klachten van hartfalen. Voor het inzetten van nieuwe behandelingsstrategieën voor de preventie van hartfalen na een myocardiinfarct is het noodzakelijk om patiënten met ernstige beschadiging van de hartspier te herkennen vanwege het verhoogde risico op het ontwikkelen van hartfalen.

Cardiovasculaire magnetische resonantie (CMR) is een niet-invasieve techniek die op accurate wijze informatie kan verschaffen over de morfologie van de onderdelen van het hart, de hartfunctie, perfusie (doorbloeding) van de hartspier en de samenstelling van diverse weefsels. Voordeel van CMR boven andere diagnostische modaliteiten zijn de hoge spatiële resolutie (in vergelijking met echocardiografie) en het gebruik van radiogolven in plaats van ioniserende straling (in vergelijking met computertomografie of SPECT). Bevindingen die suggereren dat er een blijvende verstoring van de perfusie van het myocard bestaat na PCI zijn geassocieerd met een verminderd herstel van functie op termijn en een verhoogde kans op het ontwikkelen van hartfalen. De huidige theorieën wijten deze afname van de doorbloeding aan verstopping van de haarvaten in de hartspier als gevolg van atherosclerotisch en/of trombotisch debris afkomstig van de coronaire occlusie. Dit fenomeen staat bekend als microvasculaire obstructie (MVO) of microvasculaire schade (microvascular injury, MVI). Een ander verschijnsel dat kan worden gedetecteerd met CMR is de aanwezigheid van een bloeding in de hartspier, een bevinding welke geassocieerd lijkt te zijn met een verdere daling van het herstel en een verhoogde kans op het ontwikkelen van hartfalen.

Ondertussen zijn er nieuwe CMR technieken voorhanden om de omvang en ernst van de schade aan de hartspier na een acuut infarct te meten. Afhankelijk van de ernst van de schade door infarctering verandert de samenstelling van het hartweefsel. Door een andere weefselsamenstelling verandert eveneens het radiosignaal dat het weefsel terugzendt. Twee eigenschappen van dit signaal zijn de T1 en T2* relaxatietijd, waarden die toe- of afnemen afhankelijk van de veranderingen in weefsel samenstelling. In **hoofdstuk 2** hebben we onderzocht hoe de lokale T1 en T2* waarden van het myocard verandering na een met PCI behandeld hartinfarct, en of deze waarden veranderen bij aanwezigheid van microvasculaire schade. Bij metingen enkele dagen na het myocardiinfarct bleek dat in het algemeen de T1 en T2* waarden verhoogd waren in de beschadigde delen van de hartspier. Echter, indien er eveneens microvasculaire schade aanwezig was, daalden de T1 en T2* waarden significant, met T1 waarden die de normaalwaarden voor onbeschadigd myocard benaderden. Deze bevindingen

tonen aan dat bij de aanwezigheid van microvasculaire schade, de interpretatie van T1 en T2* waarden met de nodige voorzichtigheid en in de juiste context dient plaats te vinden.

In **hoofdstuk 3** onderzochten we de specifieke weefselsamenstelling van gebieden met microvasculaire schade. Hiervoor maakten wij gebruik van een proefdiermodel met varkens, waarbij een myocardiaal infarct gecreëerd werd door met een catheterballon de LAD-kransslagader gedurende 75 minuten af te sluiten. Daarbij werden de dieren behandeld met identieke medicatie als patiënten direct na een hartinfarct. Na 1 week werd CMR beeldvorming verricht, met direct aansluitend histologisch onderzoek van het myocard. Op MRI werd microvasculaire schade gedefinieerd als gebieden verstoken van contrast, omringd door contrast-bevattend (en dus geïnfarceerd) myocard. Deze gebieden bevatten bij histologisch onderzoek uitgebreide celdood met uittreding van rode bloedcellen buiten de haarvaten en volledige vernietiging van de lokale vaatvoorziening. In het omringende gebied van het hartinfarct, met contrast aankleurend op MRI werd eveneens celdood aangetroffen, maar met intacte haarvaatjes waarin zich kleine stolseltjes bevinden. Om te meten of microvasculaire schade en een bloeding in de hartspier een en het zelfde fenomeen zijn werden de opnamen voor microvasculaire schade (zgn. LGE opnamen) en de opnamen voor bloedingen (zgn. T2 gewogen opnamen) met elkaar vergeleken, waarbij de volumina van de afwijkingen gebruikt werden als meetinstrument. Beide fenomenen vertoonden een bijna volledige overlapping, wat suggereert dat microvasculaire schade en een hartspierbloeding mogelijk één en hetzelfde verschijnsel zijn, bestaande uit weefselbloedingen en vernietiging van haarvaten. Dit suggereert eveneens dat wanneer er tekenen van een hartspierbloeding zichtbaar zijn op T2 (of T2*) gewogen beelden, de bloeding groot genoeg is om effecten uit te oefenen op de opnamen en daarmee klinisch relevant kan zijn. Een meetbare hartspierbloeding is daardoor waarschijnlijk een uiting van een ernstiger en de uitgebreider hartinfarct, wat de slechte prognose van patiënten met een hartspierbloeding verklaart, en dat de slechtere prognose minder samenhangt met de aanwezigheid van een bloeding op zichzelf. Het feit dat er aanwijzingen zijn de microvasculaire schade niet specifiek door obstructie van haarvaten komt maar dat weefselbloedingen eveneens mogelijk een rol spelen levert een bijdrage in het vinden van nieuwe behandelmogelijkheden, gericht op behoud van een intacte weefselvaatvoorziening.

In **hoofdstuk 4** wordt nagegaan of de samenstelling van het geïnfarceerde weefsel een relatie heeft met de kans op het optreden van kamerritmestoornissen (ventriculaire tachycardieën, of VTs). De samenstelling van het geïnfarceerde weefsel werd onderzocht met 'late gadolinium enhanced' (LGE) CMR onderzoek en het optreden van VTs werd gemeten middels een 24-uurs Holterregistratie 1 maand nadat het hartinfarct was opgetreden. Op MRI werd de geïnfarceerde hartspier opgedeeld in een infarct 'kern' en een omringende 'grijze zone', op basis van de gemeten signaalintensiteit. Hierbij zagen

wij dat als het infarct verhoudingsgewijs uit grotere hoeveelheden van 'grijze zone' bestaat, er een hogere kans op het ontstaan van VTs op Holter bestond. Dit ondersteunt de theorie dat als de infarctschade aan de hartspier heterogener is, dit de ontwikkeling van ritmestoornissen in het geïnfarceerde gebied kan vergemakkelijken.

In **hoofdstuk 5** hebben we onderzocht of het toepassen van stamceltherapie aansluitend op een met PCI behandeld hartinfarct, het herstel van de weefseldoorbloeding, of perfusie verbetert. De HEBE studie is een multicenter studie waarin 200 patiënten met een eerste hartinfarct (behandeld met PCI) werden gerandomiseerd naar 3 soorten aanvullende behandeling. Dit was ofwel infusie in de aangedane kransslagader van stamcellen uit het beenmerg (BMMCs) ($n = 69$), infusie van stamcellen die uit het perifere bloed geoogst waren (PBMCs) ($n = 66$) of alleen de standaard therapie ($n = 65$). Enkele dagen na het hartinfarct en na 4 maanden follow-up ondergingen patiënten een CMR onderzoek bestaande uit functionele beeldvorming, rust 'first-pass' perfusie en LGE opnamen. Bij 152 patiënten waren er beoordeelbare perfusie-opnamen beschikbaar. De perfusie werd semi-kwantitatief bepaald door de verandering van signaalintensiteit in de tijd uit te zetten in grafieken en hieruit de 'relative upslope' (maximale % verandering in signaalintensiteit) te berekenen. Deze 'relative upslope' werd berekend in de kern van het hartinfarct, de naastgelegen randzone en een stuk hartspier op afstand dat niet door het infarct was aangedaan. Enkele dagen na het infarct was er een duidelijk verschil in perfusiewaarden tussen de infarct kern, de randzone en het onaangedane myocard. Deze regionale verschillen in perfusie bleven bestaan na 4 maanden follow-up. Er werd geen verschil in de mate van herstel van perfusie gevonden tussen de behandelgroepen, waardoor geen aanvullend effect van celtherapie op perfusieherstel aantoonbaar was.

In **hoofdstuk 6** evalueerden we de lange-termijn effecten van celtherapie op de grootte en functie van de linker hartkamer (linker ventrikel), en het optreden van ongewenste medische gebeurtenissen zoals overlijden, een nieuw hartinfarct en ziekenhuisopname vanwege hartfalen. Direct na het hartinfarct, na 4 maanden en na 2 jaar ondergingen alle deelnemende patiënten uit de HEBE studie een CMR onderzoek. In totaal werden de patiënten gedurende 5 jaar vervolgd om het vóórkomen van eerdergenoemde ongewenste medische gebeurtenissen te evalueren. Van de 200 deelnemende patiënten waren er na 5 jaar 9 patiënten overleden en 12 patiënten niet meer bereikbaar. De patiënten uit de BMMC groep vertoonden minder toename van het linker ventrikel eind-diastolisch volume (LVEDV) ($3,5 \pm 16,9$ ml/m²) in vergelijking met de controlegroep ($11,2 \pm 19,8$ ml/m², $p=0,03$), waarbij er geen verschil gevonden werd tussen de PBMC groep ($9,2 \pm 20,9$ ml/m²) en controles ($p=0,69$). Bovendien werd in de BMMC groep een trend richting afname van de linker ventrikel eind systolisch volume (LSESV) ($-1,8 \pm 15,0$ ml/m²) gevonden in vergelijking met de controlegroep ($3,0 \pm 16,3$ ml/m², $p=0,07$). Wederom was er geen verschil aantoonbaar tussen de PBMC groep ($3,3 \pm 18,8$ ml/m²) en controles ($p=0,66$). Het gecombineerde eindpunt van overlijden

en ziekenhuisopname voor hartfalen kwam niet-significant verschillend voor tussen de groepen. Het gecombineerde eindpunt van overlijden of een nieuw hartinfarct kwam significant vaker voor in de PBMC-groep ($n=14$) in vergelijking tot de controlegroep ($n=3$, $p=0,008$), waarbij er geen verschil gevonden werd tussen de BMMC groep ($n=2$) en controles ($p=0,67$). Behandeling met BMMC stamceltherapie lijkt derhalve ook op de lange termijn veilig. Daarentegen suggereren de resultaten dat na PBMC stamceltherapie belangrijke ernstige cardiovasculaire bijwerkingen significant vaker voor lijken te komen.

In **hoofdstuk 7** onderzochten we de relatie tussen het specifieke onderdelen van het immuunsysteem, de ernst en hoeveelheid schade na het infarct en functioneel herstel bij patiënten na een hartinfarct. Met behulp van flowcytometrie werden uit bloedmonsters de concentraties van twee subtypen monocytten bepaald, te weten de 'klassieke' (CD14++ CD62L+) en 'niet-klassieke' (CD14+ CD62L-) monocytten. De bloedmonsters waren afkomstig van 58 patiënten die 4-6 dagen daarvoor een hartinfarct hadden doorgeemaakt, waarbij zij eveneens een CMR onderzoek ondergingen. Enkele dagen na het infarct hadden patiënten met hogere concentraties 'klassieke' monocytten een significant lagere linker ventrikel ejectiefractie, was er toename in infarctgrootte en werden er vaker tekenen van microvasculaire schade op CMR beelden ontdekt. Na 4 maanden waren de hogere concentraties 'klassieke' monocytten negatief geassocieerd met regionale hartspierfunctie, wat onafhankelijk was van de transmurale uitgebreidheid van het hartinfarct. Dit toont dat er een verband lijkt te bestaan tussen een pro-inflammatoire respons van monocytten, gekenmerkt door een hogere concentraties 'klassieke' monocytten, het optreden van ernstigere schade aan de hartspier en een slechter functionelere uitkomst.

Hoofdstuk 8 beschrijft een onderzoek dat als deelstudie van de HEBE studie werd verricht, waarin werd onderzocht of stamceltherapie het vóórkomen van kamerritmestoornissen ofwel VTs beïnvloedt. Eén maand na het hartinfarct werd bij 164 patiënten uit de HEBE groep middels 24-uurs Holterregistratie onderzocht of er VTs optraden. Eveneens werd onderzocht of er in het eerste jaar ná de stamceltherapie ernstige ritmestoornis-gerelateerde gebeurtenissen optraden. Voor het bepalen van verschillen in functie en infarctgrootte werden de CMR gegevens van deze patiënten vergeleken. Drieëndertig patiënten (20%) vertoonden significante kamerritmestoornissen, waarbij er geen verschil gevonden werd tussen de 3 behandelgroepen. Ernstige ritmestoornis-gerelateerde gebeurtenissen traden bij 2 patiënten in de PBMC groep en 1 patiënt in de controlegroep op, wat suggereert dat deze vorm van stamceltherapie niet geassocieerd lijkt met een toename van kamerritmestoornissen of ernstige ritmestoornis-gerelateerde gebeurtenissen in het eerste jaar na stamcelbehandeling.